Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin
(Direktor Professor Dr. H. Zeiss)

Über den Einfluß der Kurzwellenbestrahlung auf mit Granulombakterien geimpfte Mäuse

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

an der

Friedrich Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

INGEBORG FÖRSTER

aus Posen

1939

Buchdruckerei J. Särchen, Baruth/Mark-Berlin

M 172

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Professor Dr. S i e b e c k

Referent: Professor Dr. P e s c h

Korreferent: Professor Dr. Z e i ß

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über den Einfluß der Kurzwellenbestrahlung auf mit Granulombakterien geimpfte Mäuse

Die Erkenntnis der Bedeutung der Fokalinfektion für die Allgemeinmedizin hatte zur Folge, daß das Bestreben, die Herde so frühzeitig und so sicher wie möglich zu diagnostizieren, mehr und mehr zunahm. In neuerer Zeit stehen die Provokationsmethoden zur Sicherung der Diagnose „Herdinfektion" im Vordergrund. 1932 berichtete Ernst Mayer in Wiesbaden, daß er durch Hochfrequenzströme latente Granulome in das akutentzündliche Stadium übergeführt hätte. Gleichzeitig ging damit ein Aufflackern der sekundären Krankheitssymptome einher. Später waren es Gutzeit und Küchlein[1]), die die Provokationsmethode anwandten. Sie arbeiteten anstelle der Hochfrequenzströme mit Kurzwellen. Die Wirkung dieser Strahlen beruht nicht auf einem einfachen Durchfließen des Dielektrikums, sondern die Kurzwellen greifen als Feldenergie die kleinsten Teilchen selbst an. Nach Woltereck[2]) handelt es sich bei den Kurzwellen im Gegensatz zur Diathermie um eine gleichbleibende Wärme, die das ganze Medium durchdringt und in der Tiefe des Körpers annähernd dieselbe Temperatur erzeugt wie an der Oberfläche. Gutzeit und Küchlein beobachteten an ihrem Krankenmaterial die gleichen Wirkungen der Kurzwellen wie Mayer nach seiner Provokation mit Hochfrequenzströmen und sicherten ihre Diagnose noch durch den Nachweis einer beschleunigten Blutsenkungsreaktion im Anschluß an die Bestrahlung. Ähnliche Versuche wurden von Möhring[3]) angestellt, während Titz[4]) im Gegensatz zu den vorigen, bei deren Versuchen es sich mehr oder weniger um eine totale Reizung der Kiefer handelt, streng lokal reizt. Er verwendet zur Provokation die Diathermie, nach vorhergegangener Trepanation und Chlorameineinlage des herdverdächtigen Zahnes. Das Bild nach der Provokation ist im allgemeinen immer das gleiche: Aufflackern der chronischen Herde und stärkere Affektion der sekundären Krankheitserscheinungen. Im Anschluß an Mayers Untersuchungsergebnisse wurden von Pesch und Becker[5]) ausgedehnte bakteriologische Untersuchungen von periapikalen chronisch-latenten Granulomen angestellt, vor und nach der Provokation mit Hochfrequenzströmen. In 42 reaktionslosen Granulomen wurden regelmäßig grünwachsende Keime gefunden; nach 5 bis 15 Minuten langer Bestrahlung zeigten von 54 latenten Granulomen 11 lokale Reaktionen am Zahn; bei 22 % gelang der Nachweis haemolysierend wachsender Granulomstreptokokken. Sie werden als Variante der vor der Reizung mit Hochfrequenzströmen grünwachsenden Keime aufgefaßt. Diese Umwandlungen der Bakterien im Tierversuch nachzuweisen — die Versuche wurden an weißen Mäusen durchgeführt — war nicht von Erfolg.

Der Inhalt der vorliegenden Arbeit erstreckt sich nun darauf, weiße Mäuse mit Granulombakterien zu impfen, die Tiere mit Kurzwellen zu bestrahlen und daraufhin auftretende Veränderungen im Charakter der Granulombakterien zu beobachten.

Als Erstes wurde der Einfluß der Kurzwellen auf das Wachstum der in weißen Mäusen bestrahlten Granulombakterien auf Blutagarplatten untersucht. Als Material dienten Keime aus 4 verschiedenen latenten Granulomen. Es wurde, wie folgt, gewonnen: Es gelangten nur Granulome zur Verwendung, die durch schnelles und sicheres Extrahieren der Zähne in keiner Weise mit der Mundflüssigkeit in Berührung gekommen waren. Mit einer sterilen Schere wurde das Granulationsgewebe vom Zahn abgeschnitten, in einen sterilen Tupfer gewickelt und im keimfreien Röhrchen bis zur Überimpfung aufbewahrt. Mittels steriler Instrumente wurde es dann zerkleinert und gleichmäßig auf 2 Blutagarplatten überimpft. Die Platten wurden 48 Stunden bei 37 ° im Brutschrank bebrütet. Von Einzelkolonien wurde dann weiter abgeimpft, bis genügend Bakterienmaterial vorhanden war. Es handelte sich bei allen Granulomen um auf Blutagarplatten grünwachsende Keime. Darauf folgte eine Abschwemmung der Granulombakterien mit je 5—6 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung und sofortige Injektion, um ein Auslaugen der Bakterien in der Lösung zu verhindern. Es wurden pro Maus 0,5 ccm subkutan auf dem Rücken, 1 cm oberhalb der Schwanzwurzel, gespritzt. Es wurden immer 4 Mäuse mit den Keimen eines Granuloms geimpft. 3 von den Tieren wurden mit Kurzwellen bestrahlt, während die vierte als Testmaus diente. Ehe man zur Bestrahlung der geimpften Tiere schritt, wurde erst in Vorversuchen die Wirkung der Kurzwellen an nichtbehandelten Tieren ausprobiert. Bei Kurzwellenbestrahlung gehen die Versuchstiere leicht an Überhitzung ein (Woltereck). Schließlich gelang es, die Mäuse 4—5 Minuten lang in einem Glaszylinder, der an den beiden offenen Seiten mit Gaze bespannt war und eine Öffnung für ein Kontrollthermometer hatte — die Temperatur stieg in der Zeit bis auf 35 ° — 37 ° — den Strahlen auszusetzen. Nun erst folgten die Versuche mit den geimpften Mäusen. Um es noch einmal zusammenzufassen: drei von den gespritzten Tieren wurden 4—5 Minuten lang bestrahlt, während die vierte als Testmaus diente. Der Zeitraum zwischen Injektion und Bestrahlung betrug ca. ¾ Stunde. Die erste Maus wurde eine Stunde nach der Strahlenbehandlung, die zweite am folgenden und die dritte sowie die Testmaus am übernächsten Tag nach der Bestrahlung durch Äther getötet. Die getöteten Mäuse wurden an der Injektionsstelle mit Jod bestrichen, die Haut mittels steriler Instrumente gespalten. Eine ausgeglühte Platinöse wurde an dieser Stelle eingeführt, das entnommene Material auf Blutagarplatten ausgesät und 48 Stunden bebrütet. In dieser Weise konnte das Material dreier latenter Granulome in je 4 Mäusen bestrahlt und wieder ausgesät werden. Das Wachstum der Granulombakterien vor und nach der Kurzwellenbehandlung zeigte keinen Unterschied. Auf den Blutplatten waren stets nur grünwachsende Kolonien zu finden. Das Material des 4. Granuloms wurde zweimal bestrahlt. Es wurde erst genau wie oben verfahren, dann aber das

Material, das aus der ersten Maus gewonnen war — Tötung erfolgte eine Stunde nach der Bestrahlung —, wiederum ausgesät, mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und vier weiteren Mäusen injiziert und nochmals bestrahlt. Die aus diesen Mäusen gezüchteten Keime wuchsen auf Blutagarplatten ebenfalls vergrünend. Ein Übergang der vergrünenden Wachstumsform der Granulomstreptokokken in die haemolysierende als Folge der Kurzwellenbehandlung war im Tierversuch nicht nachweisbar. Auf die Schwankungen im Haemolysevermögen der Streptokokken weist Grumbach[6]) in seiner Lehre von der fokalen Infektion besonders hin und betont, daß die Haemolyse keine Grundlage für eine Einteilung der Streptokokken sein kann. Zu ähnlichen Beobachtungen gelangte R. C. Lancefield[7]): Ein aus einer haemolysierend gewachsenen Originalkultur gezüchteter Stamm verlor bei der Weiterzüchtung diese Eigenschaft, während Virulenz, antigene und serologische Spezifität dieselbe blieben.

Das Entstehen sekundärer Krankheiten irgendwo im Organismus, ausgehend von einem oder mehreren chronischen Entzündungsherden drängt dazu, den Zusammenhang, der zwischen diesen beiden Komponenten besteht, zu erfassen und zu klären. In letzter Zeit wird das Interessengebiet der Fokalinfektion und ihrer Folgekrankheiten stark nach der Seite der allergischen Reaktion hin verschoben. Stein[8]) stellte an herdkranken Patienten Untersuchungen über den Komplementgehalt des Blutes an und fand Anzeichen einer veränderten Immunitätslage. Nach seiner Meinung braucht der Infektionsherd an den Zähnen nicht die alleinige Ursache der verschiedenen Erkrankungen zu sein, sondern er wirkt nur dafür fördernd durch Erzeugung einer Allergie im Gesamtorganismus. So spricht auch Schilling[9]) von einer Allergie des Körpers als Folge einer chronischen Sensibilisierung, von Herden ausgehend. Auch Sebba[10]) stellt die allergische Reaktion in den Vordergrund. Siegmund[11]) sieht in der Schwierigkeit, Krankheitserreger in den Metastasen nachzuweisen, eine besondere Immunitätslage des Wirtes und faßt die örtlichen Entzündungen fern vom Fokus als erfolgreiche Auseinandersetzung des Körpers mit den Keimen auf. Die veränderte Reaktionslage des durch chronisch entzündliche Herde sensibilisierten Organismus in Betracht ziehend, wurden bei den jetzt folgenden weiteren Untersuchungen zur Prüfung der Wachstumsänderungen nach Kurzwellenbestrahlung, mit weißen Mäusen gearbeitet, die teils mit lebenden, teils mit toten Granulombakterien sensibilisiert worden waren.

Sensibilisierung von 50 weißen Mäusen

Je 2 Stämme 6 verschiedener, teils latenter, teils akut entzündlicher Granulome wurden weitergezüchtet, bis genügend Material vorhanden war. Es sollten 50 Mäuse sensibilisiert werden; 25 mit lebenden und die andere Hälfte mit toten Granulombakterien. 12 Blutagarplatten wurden mit 6—7 ccm sterilem Aqua dest. abgeschwemmt, das Material in einem sterilen Kolben vermischt und geteilt. 25 Mäuse bekamen je 0,01 ccm der Aufschwemmung subkutan auf dem Rücken injiziert. Der andere Teil der Abschwemmung kam 30 Minuten lang in ein Wasserbad von 70 °. Nach Prüfung der Sterilität des Impfstoffes erhielten die anderen 25 Mäuse eine subkutane Injektion von je 0,1 ccm. Nach diesem Verfahren wurden die Mäuse 3 Wochen lang 2 mal wöchentlich geimpft. Es folgte eine Woche, in der die Tiere nicht mehr gespritzt wurden, darauf wurden die so sensibilisierten Mäuse zu weiteren Versuchen verwendet. Es ist selbstverständlich, daß jeweils vor der Abschwemmung der Bakterien eine Überimpfung auf neue Blutagarplatten erfolgte, um bis zum Ende der Sensibilisierung das gleiche Material zu haben. — Zur Untersuchung gelangte nun Bakterienmaterial aus einer infizierten Pulpa, Stamm 248, das auf Blutagarplatten teilweise haemolysierend gewachsen, nach Überimpfung in Bouillon aber grün weitergewachsen war. Die Bakterien wurden in der üblichen Methode auf Blutagrarplatten weitergezüchtet und in 20 weißen Mäusen bestrahlt. 1. in 4 nicht sensibilisierten Mäusen; 2. in 4 Mäusen, die mit toten Bakterien sensibilisiert worden waren; 3. in 4 Mäusen, die mit lebenden Bakterien geimpft waren. Die aus den getöteten Mäusen gewonnenen Keime wuchsen alle auf Blutagarplatten vergrünend. Als Letztes wurden Keime des Stammes 248 erst in 4 Mäusen, die mit toten Granulombakterien geimpft waren, bestrahlt, den getöteten Mäusen entnommen, weitergezüchtet und dann das schon bestrahlte Material 4 Mäusen injiziert, die mit lebenden Keimen sensibilisiert worden waren. Auch diesen Bakterien konnte nach der zweiten Bestrahlung kein Haemolysevermögen nachgewiesen werden.

Als nächstes wurde das gewebsbiologische Verhalten der Granulombakterien vor und nach der Kurzwellenbestrahlung im Intrakutanversuch nach D o l d [12]) geprüft. Dold prüfte das gewebsbiologische Verhalten mehrerer Bakterienarten, unter anderen auch das der Streptokokken im Intrakutanversuch an Meerschweinchen oder weißen Kaninchen. Nach Art der Reaktion der Kaninchenhaut unterschied er bei den Streptokokken 3 Haupttypen:

1. Mehr oder weniger ausgedehntes Erythem, geringe Infiltration, oberflächliche Suppuration, Schilferung.

2. Starke Gewebsentzündung mit tiefgreifender Eiterung und Nekrose; chronischer Verlauf, Heilungstendenz.
3. Starke Allgemeinvirulenz; lokal eine flache, sich rasch ausdehnende Nekrose, Tod des Versuchstieres innerhalb weniger Tage.

Die Technik des Dold'schen Intrakutanversuches ist kurz folgende: Weiße Kaninchen, die sich besonders gut für diesen Versuch eignen, mit möglichst dicker Haut werden in einem nicht zu kleinen Fellbezirk mittels einer Paste enthaart oder rasiert. Das Rasieren ist vorzuziehen, da es durch die Enthaarungspaste leicht zu einer Dermatitis kommen kann. Die enthaarte Stelle wird gut mit Alkohol gereinigt und nun in die Haut langsam die Bakterienaufschwemmung injiziert. Da die Haut der weißen Kaninchen sehr empfindlich ist, genügen 0,1 ccm der Injektionsflüssigkeit.

Nach diesem Verfahren wurde an 2 weißen Kaninchen mit Keimen des Stammes 248 und Streptokokken eines latenten Granuloms die Intrakutanreaktion untersucht. Es wurde von dem Stamm 248 folgendes Material gezüchtet:

a) unbestrahltes Material,
b) bestrahlte Keime aus weißen Mäusen, die mit toten Bakterien sensibilisiert worden waren,
c) bestrahltes Material aus weißen Mäusen, die mit lebenden Bakterien geimpft worden waren,
d) bestrahltes Material, das 2 Mäusepassagen durchgemacht hatte, erst in Mäusen, die mit toten, und dann in Mäusen, die mit lebenden Granulombakterien sensibilisiert worden waren. Die Bakterien wurden pro Blutagrarplatte mit 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und von jeder Lösung 0,1 ccm intrakutan injiziert.

Vom 2. Tage an zeigte sich eine deutliche Schwellung und ein starkes Erythem der Hautbezirke, in die bestrahltes Material injiziert worden war, besonders der Gruppen c) und d). Das nichtbestrahlte Material hatte nur eine kleine Papel erzeugt mit geringem Erythem einhergehend, die sich bald wieder rückbildete. Bei den anderen nahmen die Entzündungserscheinungen im Laufe der folgenden Tage zu. Am 10. Tage nach der Injektion waren die Hautstellen c) und d) zu kirschgroßer Abszeßbildung mit praller Fluktuation gekommen. Das Erythem war zurückgegangen. Die Haut wurde auf der Höhe durchscheinend dünn. Es kam aber nicht zu einer Nekrose. Die Injektionsstelle b) zeigte ähnliche Reaktionen, nur etwas schwächer. Die Abszesse wurden punktiert und das Material teils auf Blutagarplatten überimpft, teil in Grampräparaten untersucht. Nach 48stündiger Bebrütung war auf den Platten nichts gewachsen, im Präparat konnten auch keine Keime nachgewiesen werden.

Von dem latenten Granulom wurde fünferlei verschiedenes Material gezüchtet und einem zweiten weißen Kaninchen injiziert.

a) unbestrahltes Material,
b) bestrahlte Keime aus nicht sensibilisierten Mäusen,

c) bestrahltes Material aus Mäusen, die mit toten Keimen sensibilisiert worden waren,

d) bestrahltes Material aus Mäusen, die mit lebenden Granulombakterien geimpft waren,

e) bestrahlte Keime, die 2 Mäusepassagen durchgemacht hatten; erst waren sie in Mäusen, die mit toten, dann in Mäusen, die mit lebenden Bakterien sensibilisiert worden waren, bestrahlt worden.

Das Ergebnis der Intrakutanreaktion bei dem 2. Kaninchen war das gleiche wie bei dem ersten, wenn auch im ganzen etwas schwächer. Die durch das Material a) und b) erzeugten Papeln zeigten kaum eine Rötung und schwanden bald; c) erzeugte schon eine stärkere Reaktion, während die Gruppen d) und e) den oben genannten Gruppen c) und d) glichen. Die Entzündungserscheinungen stiegen bei beiden Kaninchen bis zum 10. Tage an, hielten sich 2 Tage und klangen dann langsam ab. Wollten wir die Gewebsreaktionen der Typeneinteilung von Dold eingliedern, so würde von dem 1. Kaninchen die Gruppe a) zu Typ 1, die Gruppen c) und d) zu Typ 2 gehören, während b) einen Übergang darstellen würde zwischen beiden. Von dem 2. Kaninchen würden a) und b) zu Typ 1, d) und e) zu Typ 2 gehören und c) das Zwischenstadium zwischen beiden einnehmen.

Als letztes wurde der Einfluß der Kurzwellenbestrahlung auf die Pathogenität der Granulombakterien für weiße Mäuse untersucht.

Das Bakterienmaterial aus den verschiedensten Granulomen war für die weißen Mäuse, sei es vor sei es nach der Kurzwellenbestrahlung, nicht pathogen. Es war nun interessant zu prüfen, ob durch mehrmaliges Bestrahlen desselben Bakterienmaterials in verschiedenen Mäusegruppen die Keime pathogen werden würden. In der üblichen Weise wurden Bakterien eines akut-entzündlichen Granuloms gewonnen und 5 Mäusen injiziert. Die Tiere wurden erst einen Tag beobachtet und dann 5 Minuten mit Kurzwellen bestrahlt. Von den 5 Mäusen waren 2 unvorbehandelt, 2 mit toten und eine mit lebenden Granulombakterien sensibilisiert. Gleich nach der Bestrahlung wurden 3 Tiere, am nächsten Tag die weiteren 2 (ein unvorbehandeltes und ein mit toten Bakterien sensibilisiertes) getötet, das Material entnommen, weitergezüchtet und wieder 5 Mäusen injiziert. Die Bestrahlung erfolgte erst wieder am nächsten Tage. Auf diese Weise wurde das Material durch 5 Mäusepassagen hindurch weitergezüchtet und immer wieder bestrahlt. Nach der letzten Bestrahlung und Überimpfung wurden die Tiere noch 3 Tage beobachtet: Sie blieben am Leben. Eine Pathogenität für weiße Mäuse konnte durch die Kurzwellenbestrahlung nicht erzeugt werden.

Zusammenfassung

1. Bakterienmaterial aus verschiedenen latenten Granulomen zeigte nach Kurzwellenbestrahlung in weißen Mäusen keine Wachstumsänderungen auf Blutagarplatten.
2. Die gleichen Versuche mit weißen Mäusen, die teils mit latenten, teils mit toten Bakterien sensibilisiert worden waren, führten zu demselben Ergebnis.
3. Prüfung des gewebsbiologischen Verhaltens von Granulombakterien vor und nach Kurzwellenbehandlung im Intrakutanversuch. Nach der Bestrahlung in sensibilisierten Mäusen waren die Granulomstreptokokken aus dem Typus 1 in den Typus 2 übergegangen, teils bildeten sie einen Übergang zwischen beiden Typen. Unbestrahltes und in unvorbehandelten Tieren bestrahltes Material zeigte Gewebsreaktionen vom Typus 1.
4. In 5 Mäusepassagen bestrahlte Granulomkeime blieben für die Tiere apathogen.

★

Am Schluß der Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. K. L. Pesch für die freundliche Überlassung des Themas und die vielen Anregungen und Unterstützungen während der Arbeit danken.

Ferner danke ich Herrn Professor Dr. H. Zeiß für die Erlaubnis, die Versuche im Hygienischen Institut durchführen zu dürfen.

Literaturverzeichnis

1. Gutzeit u. Küchlein: Beitrag zur dentalen Infektion und ein neuer Weg zu ihrer Diagnosestellung durch Kurzwellenprovokation. Münch. med. Wschr. 84, 961 (1937)
2. Woltereck, Heinz: Die Welt der Strahlen (1937).
3. Möhring, B. (Berlin): Kritische Betrachtungen über die fokale Infektion durch Kieferherde. Zahnärztl. Rdsch. 47, H. 7, 265 (1938).
4. Titz, G.: Beitrag zur zahnärztlichen Diagnostik des odontogenen Fokalinfektes. — Dtsch. Zahnärztl. Wschr. H. 12, 273 (1939).
5. Pesch, Karl L. u. Becker, Oskar: Variable Mundstreptokokken und orale Sepsis. Plin. Wschr. Jahrg. 13, Nr. 16, 593/595 (1934).
6. Grumbach, A. (Zürich): Die Lehre von der fokalen Infektion. Erg. d. Hyg. Bd. XV, 443 ff.
7. Lancefield, R. C.: Der Verlust der haemolysierenden und pigmentbildenden Eigenschaften ohne Änderung der immunbiologischen Spezifität bei einem Stamm v. Streptoc. haemolyticus. Zentralbl. f. d. ges. Hyg. (1934), 32, 104.
8. Stein, Georg: Neuere Anschauungen zur Frage der dentogenen Herdinfektion. Zahnärztl. Stomat. 33, H. 4, 230 (1935).
9. Schilling, Viktor (Münster): Die Bedeutung der Fokalinfektion, ihre Bekämpfung auf Grund neuzeitlicher Forschung. Dtsch. Zahnärztl. Wschr. 39, H. 21, 469 (1936).
10. Sebba, Max (Danzig): Fokale Infektion und Sensibilisierung. Zahnärztl. Stomat. 35, H. 16, 1063 (1937).
11. Siegmund, Herbert (Kiel): Kritische Übersicht über die Lehre der Fokalinfektion. Zbl. f. d. ges. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Bd. 3, 241 (1938).
12. Dold: Das gewebsbiologische Verhalten der Bakterien. Zbl. f. Bakteriologie, Bd. 102, H. 6/7, 257 (1927).

Lebenslauf

Ich bin am 12. November 1911 als Tochter des Postschaffners Paul Förster und seiner Ehefrau Olga, geb. Schöpke, in Posen geboren. 1918 verzogen wir nach Guben. Ich besuchte dort das Städt. Lyzeum und später die realgymnasiale Studienanstalt in Cottbus, die ich Ostern 1930 nach bestandener Reifeprüfung verließ. Nach einem Philologie-Studium von 1 Semester begann ich im Winter-Semester 1931/32 mit dem Studium der Zahnheilkunde in Berlin. Ich bestand im Mai 1933 das Physikum und im Januar 1936 das Staatsexamen in Berlin. Seitdem bin ich in zahnärztlichen Praxen tätig.